

泽泻多糖激活PPAR- γ /LXR- α /ABCG1信号通路发挥对糖尿病肾病大鼠的保护作用

董莹莹, 张秀媛*, 王洁

北京中医医院顺义医院 内分泌科, 北京 101300

摘要:目的 探究泽泻多糖对糖尿病大鼠肾损伤的改善作用。方法 SPF级SD雄性大鼠随机分为对照组, 模型组, 吡格列酮[过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ) 激活剂, 20 mg·kg⁻¹]组, 泽泻多糖低、中、高剂量(100、200、400 mg·kg⁻¹)组和泽泻多糖(400 mg·kg⁻¹) + GW9662 (PPAR- γ 抑制剂, 10 mg·kg⁻¹)组, 除对照组外均采用高糖高脂+链脲佐菌素(STZ)柠檬酸钠缓冲液法制备糖尿病肾病(DN)大鼠模型, 造模后各组ig给药, 每天1次, 连续6周。血糖仪测定大鼠空腹血糖(FBG)水平;全自动生化分析仪检测大鼠血清肌酐、尿酸、尿素氮水平,检测24 h尿蛋白及尿肌酐,计算内生肌酐清除率(Ccr);处死大鼠,计算大鼠肾脏指数;HE染色观察大鼠右侧肾脏组织病理学变化;Western blotting法检测肾脏组织PPAR- γ /肝X受体- α (LXR- α)/ATP结合盒转运蛋白G1 (ABCG1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)蛋白水平。结果 与对照组比较,模型组大鼠毛色枯黄,体质量显著减轻($P < 0.05$);肾小球细胞空泡化、肾小球基底膜增厚;肾脏指数、FBG、24 h尿蛋白、尿酸、尿素氮、TNF- α 和IL-1 β 蛋白水平显著升高($P < 0.05$),Ccr和PPAR- γ 、LXR- α 、ABCG1蛋白水平显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,吡格列酮组和中、高剂量泽泻多糖组大鼠毛色及饮食、饮水逐渐恢复,体质量显著增加($P < 0.05$);肾损伤程度减轻;FBG、24 h尿蛋白、尿酸、TNF- α 和IL-1 β 蛋白水平显著降低($P < 0.05$),Ccr及PPAR- γ 、LXR- α 、ABCG1蛋白水平显著升高($P < 0.05$);泽泻多糖高剂量组肾脏指数显著降低($P < 0.05$)。高剂量泽泻多糖组与吡格列酮组各指标差异比较无统计学意义,GW9662可逆转高剂量泽泻多糖对大鼠肾脏功能的保护作用。结论 泽泻多糖可能通过激活PPAR- γ /LXR- α /ABCG1通路保护DN大鼠肾脏。

关键词:糖尿病肾病;泽泻多糖;过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ;肝X受体- α ;ATP结合盒转运蛋白G1

中图分类号: R285.5; R587.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 07-1480-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.07.011

Protective effect of *Alisma orientalis* polysaccharides on diabetes nephropathy rats by activating PPAR- γ /LXR- α /ABCG1 signaling pathway

DONG Yingying, ZHANG Xiuyuan, WANG Jie

Department of Endocrinology, Shunyi Hospital, Beijing Traditional Chinese Medicine Hospital, Beijing 101300, China

Abstract: Objective To explore the ameliorative effect of *Alisma orientalis* polysaccharide (AOP) on renal injury in diabetes rats. **Methods** Fifty SPF male SD rats were randomly divided into control group, model group and pioglitazone group (PPAR- γ activator, 20 mg·kg⁻¹), AOP low, medium and high dose (100, 200, and 400 mg·kg⁻¹) group, AOP high dose (400 mg·kg⁻¹) + GW9662 (PPAR- γ inhibitor, 10 mg·kg⁻¹) group, except the control group, DM rat models were made by high glucose and high fat + streptozotocin (STZ) sodium citrate buffer method. After modeling, each group was administered ig once a day for six consecutive weeks. After administration, serum fasting blood glucose (FBG), serum creatinine, uric acid and urea nitrogen were measured by fully automatic biochemical analyzer. The levels of 24-hour urinary protein and urinary creatinine were measured, and the endogenous creatinine clearance rate (CCR) was calculated. The rats were sacrificed and the renal index was calculated. The histopathological changes of the right kidney were observed by HE staining. Renal peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR- γ)/liver X receptor- α (LXR- α)/ATP binding cassette transporter G1 (ABCG1), TNF- α , IL-1 β protein level was detected by Western blotting. **Results** Compared with the control group, the model group had withered and yellow hair, reduced body weight ($P < 0.05$), vacuolization of

收稿日期: 2023-02-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81904190)

第一作者: 董莹莹(1989—),研究方向为中医药防治糖尿病。E-mail:su55bi@163.com

*通信作者: 张秀媛 E-mail:d1000000@126.com

glomerular cells, thickening of glomerular basement membrane, renal index, FBG, 24-h urinary protein, uric acid, urea nitrogen and the protein level of TNF- α and IL-1 β increased ($P < 0.05$), CCR and the protein level of PPAR- γ , LXR- α , ABCG1 decreased ($P < 0.05$). Compared with model group, the hair color, diet and drinking water of pioglitazone group, medium and high dose AOP group gradually recovered, the body weight increased ($P < 0.05$), the degree of renal injury decreased, FBG, 24-h urinary protein, uric acid and the protein level of TNF- α and IL-1 β decreased ($P < 0.05$), CCR and PPAR- γ , LXR- α , and ABCG1 protein level increased ($P < 0.05$), the kidney index of the high-dose group of AOP significantly decreased ($P < 0.05$). and there was no significant difference between high-dose AOP group and pioglitazone group. GW9662 could reverse the protective effect of AOP on renal function in rats.

Conclusion AOP may protect the renal function of DN rats by promoting the activation of PPAR- γ /LXR- α /ABCG1 pathway.

Key words: diabetes nephropathy; *Alisma orientalis* polysaccharide; peroxisome proliferator activated receptor- γ ; liver X receptor- α ; ATP binding cassette transporter G1

糖尿病是一种威胁全球约4.25亿人生活的代谢疾病^[1]。糖尿病肾病(DN)是糖尿病的重要并发症,影响30%~40%的糖尿病患者,是终末期肾病的主要原因^[2]。探究糖尿病患者肾功能损伤原理及其防治可能有助于防止DN的发生。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ)是一种配体激活的转录因子,可以通过抑制核转录因子- κ B(NF- κ B),降低促炎基因的表达^[5-6]。肝X受体- α (LXR- α)是属于核受体超家族的脂质激活转录因子,激活LXR- α 会降低许多促炎基因,如白细胞介素-1 β (IL-1 β)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的表达^[7]。ATP结合盒转运蛋白G1(ABCG1)是ABC转运蛋白家族的成员,具有调节体内细胞胆固醇平衡的作用^[8]。研究发现,PPAR- γ 可通过诱导LXR- α 的表达来刺激培养巨噬细胞中的胆固醇外流,进而激活ABCG1和其他参与胆固醇外流的基因的表达^[9]。另外,激活的PPAR- γ 可调控Toll样受体4(TLR-4)/TNF- α 路径,下调高糖血症诱发的心肌炎症和氧化应激水平^[10]。

泽泻是一种传统中药材,泽泻多糖是泽泻的重要活性成分,能够降低糖尿病大鼠血糖并改善糖耐量异常^[3-4]。但关于泽泻多糖治疗DN的发病机制目前研究较少,因此,本研究通过建立DN大鼠模型,检测泽泻多糖对糖尿病大鼠肾功能及PPAR- γ /LXR- α /ABCG1通路的影响,以期临床防治糖尿病肾功能损伤提供参考。

1 材料

1.1 动物

SPF级SD雄性大鼠50只,体质量(200 $\pm$ 20)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2019-0009,合格证号为00190305446,饲养条件为温度20~26℃,湿度40%~70%,其他条件均依照实验动物饲养规则喂养。本研究经北京中医医院顺义医院动物伦理委员会批准(批准文号202004005)。

1.2 药品与主要试剂

泽泻多糖依照文献报道方法^[11],由本实验室制备:称取泽泻粉末(泽泻购自北京中医医院顺义医院中药房,由本院王强教授鉴定为泽泻 *Alisma plantago-aquatica* Linn.的干燥块茎)1 kg,以1:20加入柠檬酸钠缓冲液与纤维素酶(0.4%),并调整pH值为4.5,水浴40℃加热提取120 min,沸水灭活。提取液滤过并加入4倍无水乙醇混匀,冷冻过夜,4 000 r·min⁻¹离心15 min,得沉淀为泽泻多糖,冷冻干燥,多糖质量分数为81.26%。

链脲佐菌素(STZ)(货号S0130,美国Sigma公司);吡格列酮(货号S2590,美国Selleck公司);GW9662(PPAR- γ 抑制剂,货号S2915,美国Selleck公司);尿液总蛋白试剂盒(货号ABE10151、ABE10240、A6738,上海瓦兰生物科技有限公司);兔抗鼠PPAR- γ /LXR- α /ABCG1、TNF- α 、IL-1 β 一抗(货号ab178860、ab176323、ab52617、ab183218、ab214025,Abcam上海贸易有限公司);羊抗兔IgG EnVison二抗(货号7074P2,美国CST公司);BCA试剂盒(货号A53225,美国ThermoFisher公司);考马斯亮蓝试剂盒(货号KL-D3297,上海康朗生物科技有限公司)。

1.3 主要仪器

GU型罗氏活力型血糖仪(德国罗氏公司);1708195 GIS-500凝胶成像仪(上海艾研生物科技有限公司);LG10-2.4A高速离心机(北京医用离心机长);CX43光学显微镜(济南欧莱博电子商务有限公司);JY-SCZ2 SDS-PAGE电泳仪(北京君意生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模、给药

SD雄性大鼠50只适应性喂养2周,尾静脉取血测定血糖未见异常。随机抽取6只作为对照组,常规饲料喂养,其余大鼠用于造模。造模大鼠饲喂高

糖高脂饲料(66.5%常规饲料+20%蔗糖+10%猪油+2.5%胆固醇+1%胆酸盐)^[12-13],饲喂8周后,造模大鼠ip 30 mg·kg⁻¹的STZ,72 h后尾静脉采血测空腹血糖(FBG),当FBG≥16.7 mmol·L⁻¹时表明造模成功。共造模成功36只,造模成功率为81.82%(36/44),随机分为模型组,吡格列酮(阳性药,20 mg·kg⁻¹)^[14]组,泽泻多糖低、中、高剂量(100、200、400 mg·kg⁻¹)^[15]组,泽泻多糖(400 mg·kg⁻¹)+GW9662(10 mg·kg⁻¹)^[16]组,每组6只。每天ig给药1次,模型组和对照组大鼠分别ig给予等体积的0.9%氯化钠溶液,连续给药6周。给药期间,除对照组外,其余大鼠均给予高糖高脂饲料喂养。观察各组大鼠一般状况。

2.2 FBG及肾脏指标的测定

给药结束后ip 1%戊巴比妥钠4 mL·kg⁻¹麻醉,抽取大鼠尾静脉血,使用血糖仪及其配套试纸测定大鼠FBG水平。全自动生化分析仪检测大鼠血清肌酐、尿酸、尿素氮水平。各组大鼠处死前称体质量,并置于洁净代谢笼内收集24 h尿样本,离心取上清,以检测24 h尿蛋白及尿肌酐水平。计算内生肌酐清除率(Ccr)。

$$Ccr = (\text{尿肌酐} \times \text{尿量}) / \text{血肌酐}$$

2.3 大鼠肾组织标本的收集

麻醉后的大鼠解剖、分离出双侧肾脏,去除包膜、多余的脂肪和结缔组织,0.9%氯化钠溶液冲洗,用滤纸吸干组织表面水分,称质量,计算肾脏指数(肾质量/体质量),将肾脏置于-80℃冰箱备用。

2.4 HE染色

取大鼠左侧肾脏组织约100 mg,经滤纸吸干表面水分,取左肾沿冠状面剖开,放于4%多聚甲醛溶液固定,在二甲苯中固定30 min,随后在质量分数为100%、95%、85%、75%的乙醇溶液中分别脱水5 min;蒸馏水冲洗后,加入苏木素染色10 min,随后置于1%盐酸5 s后,蒸馏水进行冲洗,制备石蜡切片^[17]。滴加伊红染液进行复染5 min,在不同浓度的乙醇溶液中脱水2 min,加入二甲苯进行透明处理,滴加中性树脂封片,光学显微镜观察肾组织形态结构变化,并采集图像。

2.5 Western blotting法检测大鼠肾脏组织中PPAR-γ、LXR-α、ABCG1、TNF-α、IL-1β表达水平

取约50 mg左侧肾脏组织,裂解并提取上清。BCA法对蛋白进行定量,凝胶电泳分离并转膜。5%脱脂奶封闭2 h,加入PPAR-γ、LXR-α、ABCG1、TNF-α、IL-1β(1:3 000)单抗,4℃孵育过夜,清洗。加入羊抗兔IgG二抗(稀释倍数1:15 000),室温下

孵育2 h,清洗,ECL显色。实验采用Image J软件对蛋白条带进行采集分析,并计算目的条带与相应内参β-actin的灰度值。

2.6 统计学分析

实验数据均采用SPSS 22.0软件进行统计,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,所有数据均符合正态分布,对照组与模型组、高剂量泽泻多糖组与泽泻多糖+GW9662组各指标比较采用两独立样本 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用SNK- q 检验。

3 结果

3.1 一般状态观察

对照组大鼠毛发光滑,饮食、饮水正常,状态良好,体质量逐渐增加;造模大鼠注射STZ 1周后,开始出现脱毛且毛色枯黄、粗糙,进食量、饮水量及尿量显著增加,精神不佳,体型消瘦;吡格列酮组、泽泻多糖高剂量组大鼠在给药3周后以及泽泻多糖中、低剂量组大鼠在给药4周后,大鼠状态比模型组改善,毛色逐渐光泽,活动变多。

如表1所示,末次给药后,模型组大鼠体质量显著低于对照组($P < 0.05$),肾脏指数显著高于对照组($P < 0.05$);吡格列酮组和泽泻多糖低、中、高剂量组大鼠体质量显著高于模型组($P < 0.05$),吡格列酮组和泽泻多糖高剂量肾脏指数显著低于模型组($P < 0.05$),且呈现剂量相关性;高剂量泽泻多糖组与吡格列酮组大鼠体质量、肾脏指数比较差异无统计学意义;与高剂量泽泻多糖组比较,高剂量泽泻多糖+GW9662组体质量显著下降,肾脏指数呈

表1 末次给药后各组大鼠体质量及肾脏指数的比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Comparison of body weight and renal index in each group after last administration ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	体质量/g	肾脏指数/ (mg·g ⁻¹)
对照	—	312.48±16.95	5.81±1.31
模型	—	181.39±15.26*	19.12±3.81*
吡格列酮	20	289.14±17.64 [#]	14.38±2.73 [#]
泽泻多糖	100	214.48±18.35 ^{#Δ}	18.71±3.26 ^Δ
	200	252.33±22.51 ^{#Δ}	16.53±3.25
	400	296.67±20.19 [#]	14.29±2.81 [#]
泽泻多糖+ GW9662	400+10	224.35±44.51 [▲]	16.97±3.54

与对照组比较: * $P < 0.05$;与模型组比较: [#] $P < 0.05$;与吡格列酮组比较: ^Δ $P < 0.05$;与高剂量泽泻多糖组比较: [▲] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; ^Δ $P < 0.05$ vs pioglitazone group; [▲] $P < 0.05$ vs AOP high dose group

升高趋势。

3.2 各种大鼠肾组织病理学的变化

对照组大鼠肾小球和肾小管无组织病理学改变;模型组大鼠肾小球内皮细胞空泡化,肾小球基底膜增厚,周围小管变性。与模型组比较,吡格列酮组大鼠肾组织病理改变程度减轻,肾小球及上皮细胞结构基本恢复;低、中、高剂量泽泻多糖组大鼠肾小球内皮细胞空泡化程度、肾小球基底膜增生程度逐渐减轻;与高剂量泽泻多糖组比较,高剂量泽泻多糖+GW9662组大鼠肾小球内皮细胞空泡化程度、肾小球基底膜增生程度加重。见图1。

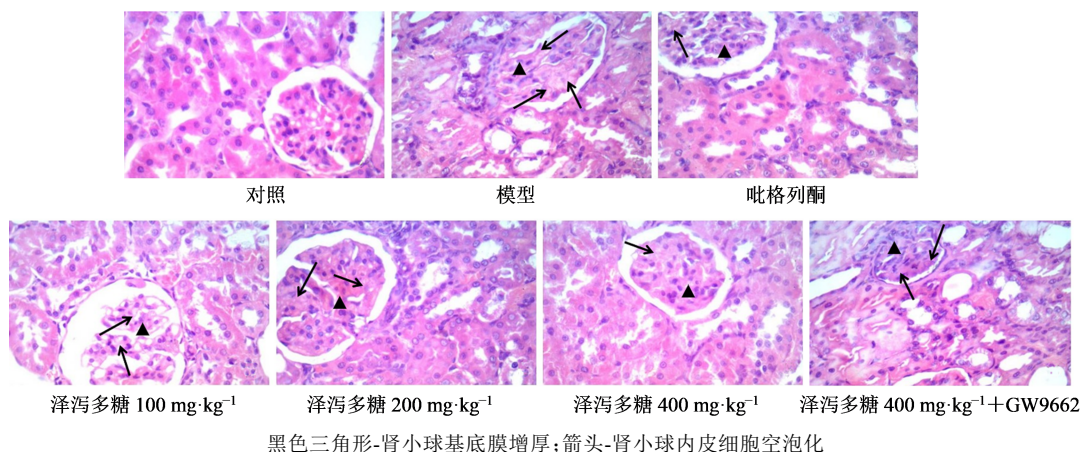
3.3 各组大鼠FBG水平及肾功能指标变化的比较

与对照组比较,模型组大鼠FBG、24 h尿蛋白、尿酸、尿素氮显著升高($P<0.05$),Ccr显著降低($P<0.05$)。与模型组相比,吡格列酮组和低、中、高剂量泽泻多糖组大鼠FBG、24 h尿蛋白显著降低($P<0.05$),Ccr显著升高($P<0.05$);吡格列酮组

和高剂量泽泻多糖组尿酸显著升高($P<0.05$)。且高剂量泽泻多糖组与吡格列酮组比较,各指标差异无统计学意义。与高剂量泽泻多糖组比较,高剂量泽泻多糖+GW9662组FBG、24 h尿蛋白、尿酸显著升高($P<0.05$),Ccr显著降低($P<0.05$)。见表2。

3.4 各组大鼠肾脏组织PPAR- γ 、LXR- α 、ABCG1、TNF- α 、IL-1 β 蛋白表达水平

与对照组比较,模型组大鼠肾脏组织中PPAR- γ 、LXR- α 、ABCG1蛋白水平均显著降低($P<0.05$),TNF- α 、IL-1 β 蛋白水平均显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,吡格列酮组及低、中、高剂量泽泻多糖组PPAR- γ 、LXR- α 蛋白水平均显著升高($P<0.05$),吡格列酮组及低、中、高剂量泽泻多糖组ABCG1蛋白水平均显著升高($P<0.05$)、TNF- α 、IL-1 β 蛋白水平均显著降低($P<0.05$),且高剂量泽泻多糖组与吡格列酮组相比,各指标差异无统计学意义。与高剂量泽泻多糖组相比,高剂量泽泻多糖+GW9662组



Black triangle-thickening of glomerular basement membrane; arrows-vacuolization of glomerular endothelial cells

图1 各组大鼠肾组织病理学的变化(HE染色,×400)

Fig. 1 Changes of renal histopathology in each group (HE staining, ×400)

表2 各组大鼠FBG水平及肾功能指标的比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Table 2 Comparison of FBG level and renal function indexes in each groups ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	FBG/ (mmol·L ⁻¹)	24 h尿蛋白/mg	Ccr/ (mL·min ⁻¹)	尿酸/ (mol·L ⁻¹)	尿素氮/ (mol·L ⁻¹)
对照	—	5.15±0.58	53.84±10.69	1.86±0.11	105.71±21.41	5.56±1.09
模型	—	18.67±3.15*	526.34±59.58*	0.69±0.08*	202.54±40.51*	6.72±1.30*
吡格列酮	20	8.79±1.35 [#]	175.46±23.82 [#]	1.65±0.10 [#]	126.15±25.12 [#]	5.47±1.07
泽泻多糖	100	14.68±2.85 ^{#Δ}	421.76±46.48 ^{#Δ}	0.94±0.09 ^{#Δ}	182.47±36.48 ^Δ	6.01±1.19
	200	11.74±1.46 ^{#Δ}	325.79±31.75 ^{#Δ}	1.32±0.09 ^{#Δ}	153.61±29.57	5.84±1.15
	400	9.11±0.75 [#]	182.62±21.89 [#]	1.71±0.12 [#]	124.35±23.99 [#]	5.43±1.07
泽泻多糖+GW9662	400+10	13.16±2.61 [▲]	372.55±74.55 [▲]	1.26±0.25 [▲]	157.29±31.09 [▲]	5.82±1.19

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: [#] $P<0.05$; 与吡格列酮组比较: ^Δ $P<0.05$; 与高剂量泽泻多糖组比较: [▲] $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group; [#] $P<0.05$ vs model group; ^Δ $P<0.05$ vs pioglitazone group; [▲] $P<0.05$ vs AOP high dose group

PPAR- γ 、LXR- α 、ABCG1 水平均显著降低 ($P < 0.05$)、TNF- α 、IL-1 β 蛋白水平均显著升高 ($P < 0.05$)。见图2、3。

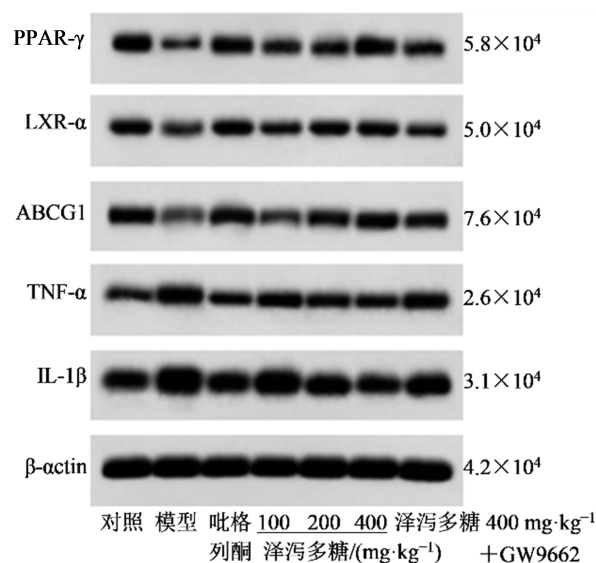
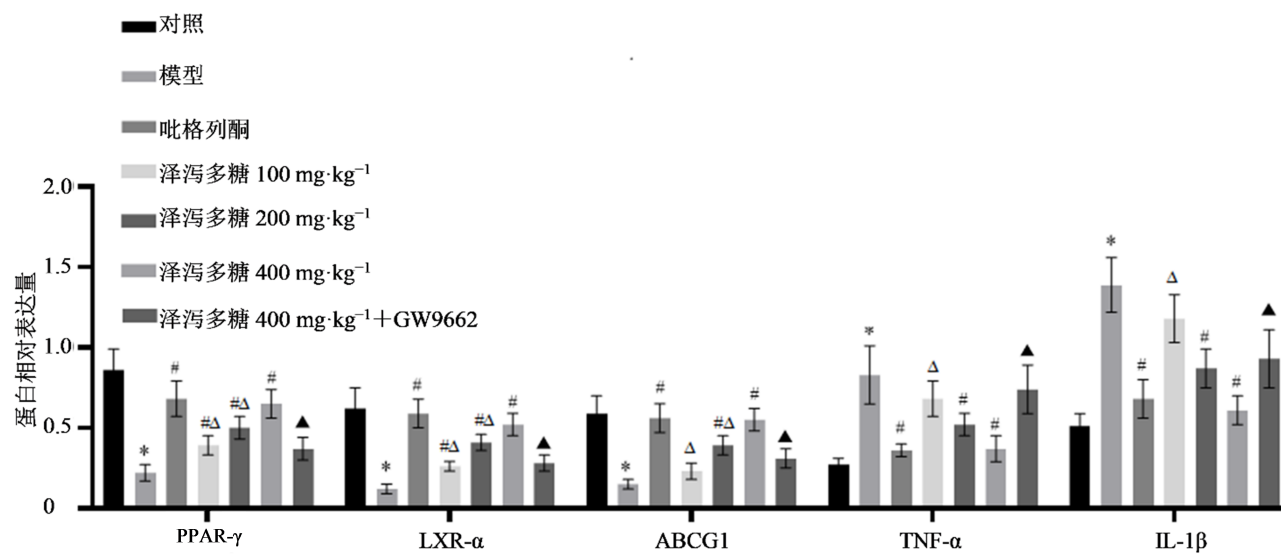


图2 各组大鼠肾脏组织 PPAR- γ 、LXR- α 、ABCG1、TNF- α 、IL-1 β 蛋白表达

Fig. 2 Protein expression of PPAR- γ , LXR- α , ABCG1, TNF- α and IL-1 β in renal tissues of rats in each group



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与吡格列酮组比较: $\Delta P < 0.05$; 与高剂量泽泻多糖组比较: $\blacktriangle P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ vs pioglitazone group; $\blacktriangle P < 0.05$ vs AOP high dose group

图3 各组大鼠肾脏组织 PPAR- γ 、LXR- α 、ABCG1、TNF- α 、IL-1 β 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Protein expression of PPAR- γ , LXR- α , ABCG1, TNF- α and IL-1 β in renal tissues of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

现,泽泻能够有效降低糖尿病大鼠 FBG 水平。另外,泽泻汤加味方可降低高血压大鼠收缩压,并有效保护大鼠肾功能^[23]。本研究发现,对照组大鼠毛发光滑,饮食、饮水正常;模型组大鼠毛色枯黄,进食量、饮水量及尿量显著增加,体质量下降,FBG、尿

4 讨论

糖尿病是一种内分泌和代谢性疾病,严重威胁人类健康,近年来糖尿病的发病率和死亡率一直以惊人的速度持续增长。糖尿病最常见和最严重的并发症之一是 DN,其已成为慢性肾衰竭的主要原因,最终将导致终末期肾脏疾病。临床上,DN 的特点是尿蛋白排出增加和 Ccr 下降,两者都反映了肾功能的进行性恶化^[18]。事实上,单独检测蛋白尿还不足以监测 DN 的发生和发展,在蛋白尿发生之前,约有 1/3 的患者会出现肾功能下降^[19]。因此,临床不仅需要监测糖尿病患者肾功能变化,也需要探究影响 DN 发病的影响因素,可能对于及早防治 DN 具有重要意义。

泽泻是传统中药材,为泽泻科植物泽泻的干燥块茎,性寒、味甘、淡,临床上主要用于治疗泄泻尿少、水肿胀满、小便不利^[20]。现代药学认为,泽泻的主要活性成分为多糖、三萜、黄酮等,具有抗脂肪肝、降血脂、利尿等药理作用^[21]。传统中药多以水煎剂服用,而多糖为泽泻主要的水溶性成分之一,具有促进胰岛素释放进而降血糖作用^[15]。丁琛一等^[22]通过给予原发性糖尿病大鼠单味中药泽泻发

酸、尿素氮、24 h 尿蛋白、肾脏指数升高,Ccr 水平下降;泽泻多糖低、中、高剂量组大鼠状态比模型组改善,活动变多,体质量增加,且 FBG、尿酸、尿素氮、24 h 尿蛋白、肾脏指数降低,Ccr 升高。说明糖尿病大鼠模型造模成功,泽泻多糖可以降低糖尿病大鼠

血糖、改善大鼠肾功能指标。

PPAR- γ 广泛表达于人体血管平滑肌细胞、巨噬细胞和心肌细胞中,可与配体结合并激活与糖脂代谢调控有关的一系列基因转录和蛋白表达,并阻止炎症反应^[24]。研究发现,2型糖尿病(T2DM)大鼠血清PPAR- γ mRNA水平降低^[25]。LXR- α 是一种配体依赖性核受体,在肝脏、肾上腺、肠、脂肪组织、肾脏、肺和巨噬细胞中表达^[26]。研究发现,PPAR- γ 可通过LXR- α 诱导巨噬细胞胆固醇外流,PPAR- γ 和LXR- α 之间的潜在作用已被确定用于动脉粥样硬化的预防和治疗^[27]。吴松等^[28]发现T2DM小鼠肾脏组织LXR- α 水平降低,激活LXR- α 可减少T2DM小鼠肾损伤。ABCG1是细胞脂质稳态的中心调解因子,并受到LXR- α 的转录调控,其通过介导胆固醇转运,从而影响胰岛 β 细胞的胰岛素分泌^[29]。此外,PPAR- γ /LXR- α /ABCG1通路炎症及糖尿病密切相关^[30]。本研究结果表明DN模型组大鼠肾脏组织中PPAR- γ 、LXR- α 、ABCG1蛋白水平显著降低,而TNF- α 、IL-1 β 水平显著升高,提示PPAR- γ /LXR- α /ABCG1通路可能与DN的发生有关。泽泻多糖可增加模型大鼠PPAR- γ 、LXR- α 、ABCG1表达,并降低TNF- α 、IL-1 β 表达,且高剂量泽泻多糖大鼠各项指标与吡格列酮组差异无统计学意义,猜测泽泻多糖改善大鼠肾功能可能是通过激活PPAR- γ /LXR- α /ABCG1通路,降低大鼠炎症反应,减轻肾损伤。为证明此推测,本研究通过在高剂量泽泻多糖组中添加PPAR- γ 抑制剂,发现GW9662可逆转泽泻多糖对大鼠肾脏损伤的控制作用,证实了泽泻多糖对大鼠肾脏功能的保护作用与PPAR- γ /LXR- α /ABCG1激活有关。

本研究结果表明,泽泻多糖可以通过促进PPAR- γ /LXR- α /ABCG1通路激活保护DN大鼠肾脏。后续研究将通过免疫组化等方法检测肾脏中PPAR- γ /LXR- α /ABCG1的表达水平,进一步探讨作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- Gramberg M C T T, Lagrand R S, Sabelis L W E, et al. Using a BonE BiOPsy (BeBoP) to determine the causative agent in persons with diabetes and foot osteomyelitis: Study protocol for a multicentre, randomised controlled trial [J]. *Trials*, 2021, 22(1): 517.
- 王艳峰. 雷公藤多甙联合前列地尔治疗糖尿病肾病患者的疗效分析 [J]. *实用临床医药杂志*, 2021, 25(16): 65-69.
- Wang Y F. Efficiency analysis of tripterygium glycosides combined with alprostadil in the treatment of patients with diabetic nephropathy [J]. *J Clin Med Pract*, 2021, 25(16): 65-69.
- 钱增堃, 崔凡, 凌云熹, 等. 泽泻多糖对糖尿病大鼠肝脏糖脂代谢的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(11): 117-125.
- Qian Z K, Cui F, Ling Y X, et al. Effect of alismatis rhizoma polysaccharide on glucose-lipid metabolism in diabetic rats [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2018, 24(11): 117-125.
- 张锋利, 唐凤英, 沈舒文, 等. 桔梗枳壳汤加味对反流性食管炎模型大鼠PI3K/Akt信号通路及胃肠动力的影响 [J]. *中医药导报*, 2020, 26(10): 36-41.
- Zhang F L, Tang F Y, Shen S W, et al. Effect of modified Jiegeng Zhike Decoction (桔梗枳壳汤加味) on PI3K/Akt signal pathway and gastrointestinal motility in rats with reflux esophagitis [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm*, 2020, 26(10): 36-41.
- Sarkar P, Thirumurugan K. New insights into TNF α /PTP1B and PPAR γ pathway through RNF213: a link between inflammation, obesity, insulin resistance, and Moyamoya disease [J]. *Gene*, 2021, 771: 145340.
- 孙波, 李小芹, 周方. 甘草酸对幼鼠实验性结肠炎的治疗作用及其机制研究 [J]. *现代药物与临床*, 2018, 33(10): 2471-2476.
- Sun B, Li Xia Q, Zhou F. Therapeutic effect and its mechanism of glycyrrhizic acid on experimental colitis in rats [J]. *Drugs Clin*, 2018, 33(10): 2471-2476.
- Li S S, Cao H, Shen D Z, et al. Effect of quercetin on atherosclerosis based on expressions of ABCA1, LXR- α and PCSK9 in ApoE^{-/-} mice [J]. *Chin J Integr Med*, 2020, 26(2): 114-121.
- Hardy L M, Frisdal E, Le Goff W. Critical role of the human ATP-binding cassette G1 transporter in cardiometabolic diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(9): 1892.
- Zhao T, Wu K, Hogstrand C, et al. Lipophagy mediated carbohydrate-induced changes of lipid metabolism via oxidative stress, endoplasmic reticulum (ER) stress and ChREBP/PPAR γ pathways [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(10): 1987-2003.
- 刘长乐, 刘瑞蒙, 吴小寒, 等. PPAR γ -TLR4-TNF- α 靶向路径在高糖血症致心肌炎症反应和氧化应激中的作用 [J]. *中华危重病急救医学*, 2018, 30(5): 416-421.
- Liu C L, Liu R M, Wu X H, et al. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor γ -toll-like receptor 4-tumor necrosis factor- α targeted pathway on hyperglycemia

- induced myocardium inflammation and oxidative stress [J]. Chin Crit Care Med, 2018, 30(5): 416-421.
- [11] 张雪, 谌赛男, 陈莹, 等. 响应面法优化纤维素酶提取泻泻多糖的工艺研究 [J]. 中药材, 2016, 39(7): 1614-1617.
Zhang X, Chen S N, Chen Y, et al. Optimization of cellulase extraction process of *Alisma orientalis* polysaccharides by response surface methodology [J]. J Chin Med Materls, 2016, 39(7): 1614-1617.
- [12] 高雪, 安至超, 何其英, 等. 高脂饲料喂养时间对2型糖尿病肾病大鼠模型的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(1): 114-119.
Gao X, An Z C, He Q Y, et al. Effects of high fat diet feeding time on the establishment of a rat model of type 2 diabetic nephropathy [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2018, 26(1): 114-119.
- [13] 孔二亮, 陈默, 拜云虎, 等. 瑞芬太尼通过激活 PI3K/Akt/eNOS 通路减轻肾缺血/再灌注损伤 [J]. 第二军医大学学报, 2019, 40(12): 1337-1343.
Kong E L, Chen M, Bai Y H, et al. Remifentanyl alleviates renal ischemia/reperfusion injury by activating PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. Acad J Second Mil Med Univ, 2019, 40(12): 1337-1343.
- [14] Yang S S, Chen Z, Cao M, et al. Pioglitazone ameliorates A β 42 deposition in rats with diet-induced insulin resistance associated with AKT/GSK3 β activation [J]. Mol Med Rep, 2017, 15(5): 2588-2594.
- [15] 张明丽, 陈吉全, 周新强. 泻泻多糖对2型糖尿病大鼠胰岛素抵抗及脂代谢紊乱的改善作用及机制研究 [J]. 中国药房, 2018, 29(1): 42-45.
Zhang M L, Chen J Q, Zhou X Q. Improvement effects of *Alisma orientalis* polysaccharide on insulin resistance and lipid metabolism disorder in type 2 diabetes mellitus rats and its mechanism study [J]. China Pharm, 2018, 29(1): 42-45.
- [16] 曹亮, 张长洪, 项保利. 参麦注射液通过 PPAR γ 途径改善 COPD 大鼠炎症及氧化应激状态的实验研究 [J]. 中药药理与临床, 2019, 35(5): 2-6.
Cao L, Zhang C H, Xiang B L. Experimental study of Shenmai injection on inflammation and oxidative stress in COPD rats through PPAR γ pathway [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2019, 35(5): 2-6.
- [17] 王涛, 刘宏祥, 王颖, 等. 清热化痰解毒方预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用及其对 TXNIP/NLRP3 通路的影响 [J]. 重庆医学, 2018, 47(28): 3605-3609.
Wang T, Liu H X, Wang Y, et al. Protective effects of Qingre Huayu Jiedu Decoction on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats and its effect on TXNIP/NLRP3 pathway [J]. Chongqing Med, 2018, 47(28): 3605-3609.
- [18] Sattarinezhad A, Roozbeh J, Shirazi Yeganeh B, et al. Resveratrol reduces albuminuria in diabetic nephropathy: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial [J]. Diabetes Metab, 2019, 45(1): 53-59.
- [19] Zhang J, Liu J H, Qin X S. Advances in early biomarkers of diabetic nephropathy [J]. Rev Assoc Med Bras (1992), 2018, 64(1): 85-92.
- [20] 徐晴雯, 任冯春, 李敏, 等. 阳和平喘颗粒通过 TGF- β 1/Smad 信号通路影响慢性哮喘大鼠气道重塑的机制 [J]. 安徽中医药大学学报, 2020, 39(3): 63-67.
Xu Q W, Ren F C, Li M, et al. Yanghe Pingchuan Granule affects airway remodeling in rats with chronic asthma via the TGF- β 1/smard signaling pathway [J]. J Anhui Univ Chin Med, 2020, 39(3): 63-67.
- [21] 张慧娟, 龚苏晓, 许浚, 等. 泻泻药材的研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4741-4751.
Zhang H J, Gong S X, Xu J, et al. Research progress of *Alismatis Rhizoma* and prediction analysis on its Q-marker [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(19): 4741-4751.
- [22] 丁琛一, 谭擎英, 施宁川. 泻泻与格列齐特对原发性糖尿病大鼠治疗作用的评价 [J]. 中国医学科学院学报, 2015, 37(4): 451-455.
Ding C Y, Tan Q Y, Shi N C. *Alisma* versus gliclazide in the treatment of primary diabetes in goto-kakizaki rats [J]. Acta Acad Med Sin, 2015, 37(4): 451-455.
- [23] 何红梅, 梅爱敏, 田河林, 等. 泻泻汤加味方对高盐诱导大鼠高血压肾功能损害的保护作用 [J]. 山东医药, 2017, 57(17): 31-33.
He H M, Mei A M, Tian H L, et al. Protective effect of Zexie Tang Jiawei Fang on renal function damage induced by high salt in rats with hypertension [J]. Shandong Med J, 2017, 57(17): 31-33.
- [24] Han L, Shen W J, Bittner S, et al. PPARs: Regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part I: PPAR-A [J]. Future Cardiol, 2017, 13(3): 259-278.
- [25] 周珺, 张泉龙, 杨茜, 等. 骆驼奶对2型糖尿病大鼠糖脂代谢及 PPAR- γ 、TNF- α mRNA 的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(5): 25-30.
Zhou J, Zhang Q L, Yang Q, et al. Effects of camel milk on glycolipid metabolism and PPAR γ , TNF α mRNA expression in rats of type 2 diabetes mellitus [J]. Chin J Comp Med, 2016, 26(5): 25-30.
- [26] Teupser D, Kretzschmar D, Tennert C, et al. Effect of macrophage overexpression of murine liver X receptor-alpha (LXR-alpha) on atherosclerosis in LDL-receptor

- deficient mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(11): 2009-2015.
- [27] Xu P F, Zhai Y G, Wang J. The role of PPAR and its cross-talk with CAR and LXR in obesity and atherosclerosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4): 1260.
- [28] 吴松, 杜亚琴, 张萍, 等. T0901317激活肝X受体 α 改善db/db小鼠肾损伤 [J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(1): 75-80.
- Wu S, Du Y Q, Zhang P, et al. T0901317 improves renal injury in db/db mice by activating liver X receptor A [J]. *J Third Mil Med Univ*, 2020, 42(1): 75-80.
- [29] Mostafa A M, Hamdy N M, El-Mesallamy H O, et al. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) -based therapy upregulates LXR-ABCA1/ABCG1 cascade in adipocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 468(4): 900-905.
- [30] Cao X J, Zhang L L, Chen C H, et al. The critical role of ABCG1 and PPAR γ /LXR α signaling in TLR4 mediates inflammatory responses and lipid accumulation in vascular smooth muscle cells [J]. *Cell Tissue Res*, 2017, 368(1): 145-157.

[责任编辑 兰新新]